



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

La complejidad de la Peritonitis Infecciosa Felina y
su vacunación

The Feline Infectious Peritonitis complexity and
its vaccination

Autor/es

María Isabel López Miguel

Director/es

María Carmen Simón Valencia

Facultad de Veterinaria de Zaragoza
2018

ÍNDICE:

1.	Resumen.....	1
2.	Introducción (revisión bibliográfica).....	2
2.1.	Etiología, clasificación, morfología y constitución estructural y genética de los Coronavirus.....	2
2.2.	Mecanismo de acción y mutación de los coronavirus.....	3
2.3.	Origen de los coronavirus humanos y tipos.....	4
2.4.	Tipos de coronavirus felinos : tipo I y tipo II	5
2.5.	La infección por coronavirus entéricos felinos (CEF) y su paso a virus de la Peritonitis infecciosa Felina (PIFV).....	6
2.6.	El origen de los virus de la PIF.....	7
2.7.	La Peritonitis infecciosa Felina.....	8
2.7.1.	Epidemiología.....	8
2.7.2.	Inmunopatogénesis.....	9
2.7.3.	Signos clínicos y lesiones	11
2.7.4.	Diagnóstico.....	13
2.7.5.	Tratamiento.....	18
2.7.6.	Vacunas y profilaxis.....	20
3.	Justificación y objetivos.....	22
4.	Material y métodos.....	22
5.	Resultados y discusión.....	23
6.	Conclusiones.....	28
7.	Valoración personal.....	28
9.	Bibliografía.....	28
10.	Anexos.....	35

1. Resumen

La peritonitis infecciosa felina o PIF es una enfermedad vírica descrita en la década de los 60 y la más estudiada de la especie felina. La PIF presenta una distribución mundial y una prevalencia menor del 5%. Se puede definir como una enfermedad inmunomediada, progresiva, debilitante y mortal, generalmente relacionada con la edad (animales jóvenes de 6 meses a 2 años, y en mayores de 10 años); además también es determinante la densidad de animales (colectividades como colonias callejeras), el estrés, la inmunidad del animal y su genética. El origen del primer virus del PIF (PIFV) se desconoce, pero se sospecha que sea una variante genética preexistente de otro coronavirus presente en otras especies, ya que se han detectado variaciones del virus en esas especies. Durante miles de años, los coronavirus han sido responsables de enteritis leves y afecciones respiratorias, y se han adaptado a casi todas las especies de mamíferos y aves, incluido el ser humano. En este último han llegado a producir graves enfermedades como el Síndrome Respiratorio Agudo Grave y el Síndrome Respiratorio del Medio Oriente (SARS y MERS respectivamente, por sus siglas en inglés), que cursan con una alta morbilidad y mortalidad.

En el caso del gato, la teoría más probable es que los Coronavirus Entéricos Felinos (biotipos CEFV), que pueden producir enteritis leves o subclínicas, sufran mutación (se conocen al menos tres) en el gato infectado y esto favorezca el desarrollo de la Peritonitis Infecciosa Felina (biotipos PIFV). Actualmente se conoce la interacción de cada uno de los biotipos del virus con las células a las que infecta y las diferencias de respuesta entre diferentes hospedadores, sin embargo, la complejidad de la patogenia de la PIF explican la dificultad para desarrollar tratamientos y vacunas eficaces.

Summary

Feline infectious peritonitis or FIP is a viral disease described in the 60s and is one of the most studied on feline species. The PIF has a worldwide distribution and a prevalence of less than 5%. It can be defined as immune-mediated, progressive, debilitating and fatal disease, usually related to age, (young cats from 6 months to 2 years, and animals over 10 years of age), also related to cat density (as stray cat colonies, shelters..), stress, animal immunity and genetics. The origin of the first PIFV is unknown, but it is suspected that it is a genetic variant of another pre-existing from other species, since variations of the virus have been detected in those species. The coronaviruses have been responsible for thousands of years of mild enteritis and respiratory conditions and they are adapted to almost all species of mammals and birds, including humans, in which these viruses could produce severe diseases such as the Severe Acute Respiratory Syndrome and Middle East Respiratory Syndrome (SARS and MERS,

respectively), originating a high morbidity and mortality. Regarding to cats, the most probable theory is that Feline Enteric Coronaviruses (biotypes FECV), usually producers of mild and subclinic enteritis, could undergo some mutations (at least three are known) in the infected cat, and these could favor the development of feline infectious Peritonitis (biotypes FIPV). Currently, the interaction of each biotypes with the cells to which it infects and the differences in response between different hosts is known, although the complexity of its pathogeny explain the difficulty to develop efficacious treatment and vaccines.

2. Introducción

2.1. Etiología, clasificación, morfología y constitución estructural y genética de los Coronavirus

Los coronavirus pertenecen al orden Nidovirales, a la familia Coronaviridae y subfamilia Coronavirinae. Además consta de cuatro géneros: *Alfa-*, *Beta-*, *Gamma-*, y *Deltacoronavirus*. Se han descrito unos veinte coronavirus presentes en los animales, incluidos en aves de corral y en mamíferos como el perro, el gato, el cerdo, los bóvidos, etc...) (Tabla 1).⁴³ Los Coronavirus felinos se presentan como cepas apatógenas, cepas que causan enteritis (CEFV) y las que causan peritonitis infecciosa felina (PIFV). Además de estar presentes en los animales, también infectan a la especie humana, estos virus pertenecen al género de los *Beta-coronavirus* y están subdivididos en 4 grupos: A, B, C y D. Las cepas más antiguas de coronavirus humanos (HCoV-OC43 y HCoV-229E), se asociaron con patologías respiratorias no graves.²⁵ Desde la década del 2000 hasta ahora se han conocido dos nuevos Coronavirus humanos (SARS en 2002 y MERS en 2012), los cuales han causado graves y mortales cuadros respiratorios. Por ello ha aumentado su estudio tanto de los que infectan a las personas, como de los animales, ya que se considera que han evolucionado a partir de estos.^{13, 76}

En cuanto a la morfología, los coronavirus son virus pleomórficos con envoltura y un diámetro de 80 a 200nm. En su superficie presentan proyecciones características responsables de su nombre (aspecto de corona). Además están formados por cuatro proteínas estructurales: la proteína *S*, en la superficie de las proyecciones, la proteína *N* en la cápside vírica, la proteína *M* en la matriz y la proteína *E*, en la envoltura. En *Beta-coronavirus* del grupo A, hay una quinta proteína estructural **HE** o Hemaglutinina esterasa.⁶¹

Los coronavirus poseen ARN, de cadena simple, positiva, no segmentada y poliadenilada de gran tamaño, con 29 kilobases. Poseen un amplio espectro de virulencia.

Tabla 1: Clasificación de los Coronavirus de interés clínico/epidemiológico en la especie humana y en felinos y otras especies animales

Género del virus	Variantes
<i>Alfacoronavirus</i>	<i>Humanos:</i> HCoV-229E; HCoV-NL63 <i>Felinos:</i> FCoV (CEF y PIFV) <i>Caninos:</i> CCoV <i>Porcinos:</i> PEDV; TEGV; PRCV <i>Varios de otras especies</i> (alpaca, visón, murciélagos)
<i>Betacoronavirus</i>	<i>Humanos:</i> SARS-CoV; MERS-CoV HCoV-HKU1; HCoV-OC43M <i>Caninos:</i> CrCoV <i>Varios de otras especies</i> (roedores, conejo, cerdo, caballo, bóvidos, ñu, camellos, alce, búfalo, jirafa)
<i>Deltacoronavirus</i>	Varios de <i>porcino y aves (silvestres)</i>
<i>Ganmacoronavirus</i>	Varios de <i>aves domésticas y delfín</i>

Siglas: **CrCoV:** Coronavirus respiratorio canino; **CEF:** Coronavirus Enterico Felino; **FCoV:** Coronavirus Felinos (En inglés FCoV); **HCoV-OC43, -229E; -HKU1; -NL63:** Coronavirus humanos -OC43; -229E; -HKU1; -NL63; **MERS-CoV:** Coronavirus productor de Síndrome respiratorio del Medio Este (del inglés: Middle EAST Respiratory Syndrome); **MHV:** Mouse hepatitis virus; **PEDV:** Coronavirus de la Diarrea epidémica porcina; **PIFV:** Coronavirus que ha producido Peritonitis infecciosa felina; **PRCV:** Coronavirus respiratorio porcino; **SARS-CoV:** Coronavirus productor del Síndrome Respiratorio Agudo Grave (del inglés: Severe Acute Respiratory Syndrome); **TEGV:** Coronavirus de la Gastroenteritis transmisible porcina

2.2. Mecanismo de acción y mutación de los coronavirus

En el conjunto de los virus ARN monocatenarios, los coronavirus son los que sufren mutaciones con mayor frecuencia, siendo el número de sustituciones de 10^4 por locus.^{55, 63} Debido a la longitud de su cadena de ARN, tienen gran plasticidad para modificarse por mutación y recombinación, y esto favorece la variabilidad intraespecie, el salto interespecie y el desarrollo de nuevos CoVs.⁷⁵

La recombinación puede ocurrir durante la replicación ya que se genera un set de ARNs subgenómicos, aumentando así la recombinación homóloga con genes estrechamente relacionados procedentes de diferentes líneas de CoVs u otros virus. Así mismo, al circular diferentes CoVs en múltiples hospedadores, se incrementan las posibilidades de la

recombinación. Aunque el mecanismo no sea muy claro, el lugar de la recombinación parece ser al azar. Entre los ejemplos de la recombinación se encuentran los MHV, TGEV, FCoV y en los de origen humano los OC43, NL63, HKU1, SARS-CoV y MERS-CoV. Como ejemplos, el Coronavirus respiratorio canino (CRCoV), que es un *Betacoronavirus* 1, detectado en Reino Unido en 2003 por primera vez en perros que sufrían un cuadro respiratorio grave,¹⁶ y por otro lado, el coronavirus entérico canino pertenece a los *Alfacoronavirus*, que sólo comparte un 69% de la secuencia nucleotídica con el coronavirus respiratorio. Este último a su vez parece derivar del bovino (BCoV), al igual que el coronavirus humano (HCoV-OC43), lo que sugiere el salto entre las especies.⁴¹

2.3.Origen de los coronavirus humanos y tipos

Existen coronavirus muy bien adaptados a los seres humanos (229E, OC43, NL63 y HKU1) y tienen distribución global, pero ninguno tiene reservorio animal que lo mantenga. En el caso de SARS-CoV y MERS-CoV, no están tan bien adaptados a los seres humanos y tienen reservorios animales principalmente (zoonosis). En la infección por el SARS-CoV, está implicada la civeta enmascarada de las palmeras (*Paguma larvata*) que se encuentra en mercados de animales vivos de Guangdong en China (aunque esta especie en estado salvaje o en granjas, era negativa a este virus), de ahí que se pensó en su papel como hospedador intermediario⁵³. Los murciélagos de Herradura (familia Rhinolophidae), que también pueden encontrarse en esos mercados chinos, mostraban altos títulos de Acs frente a SARS-CoV y se aisló un virus similar (SARS-Rh-bat CoV), deduciendo que éste era el origen del humano. Se supone que el ancestro se adaptó primero a los murciélagos, después pasó a las civetas enmascaradas y posteriormente a las personas.³⁵ Por otro lado, el intermediario no es necesario en la transmisión a las personas.²⁰

En el caso de los MERS-CoV, la positividad en anticuerpos (Acs) neutralizantes encontrada en los dromedarios, y el aislamiento del MERS-CoV a partir de la secreción nasal de estos animales, hace que se les consideren la fuente potencial en la transmisión a las personas. Sin embargo, en algunos casos de infección humana, no se ha demostrado contacto con dromedarios, por lo que se piensa que tiene que haber otras especies animales implicadas.⁵⁸ En estudios realizados con el coronavirus de murciélago HKU4, se observa que está muy relacionado, filogenéticamente con el MERS-CoV, además de utilizar el mismo receptor de entrada a las células (CD26), lo que permite hipotetizar sobre su origen en los murciélagos, pero no se ha aislado de murciélagos salvajes.

Los coronavirus humanos clásicos como HCoV-OC43 y HCoV-229E, y más recientes como HCoV-HKU1 y HCoV-NL63 son los causantes de infecciones del aparato respiratorio superior. Los síntomas asociados a estas virus son no específicos, como dolor de cabeza y muscular, fiebre, tos y congestión nasal. En personas inmunodeprimidas, grupos de edad como ancianos o niños, o con otra patología de base, los síntomas pueden ser más graves, incluso mortales. Generalmente estas infecciones son autolimitantes y no mortales, y muestran distribución mundial. Los SARS-CoV y MERS-CoV son excepcionales:

– *La emergencia de SARS-CoV* ⁶³, fue una epidemia a escala mundial, consecuencia del traslado de casos infectados secundarios a su destino final (Vietnam, Canadá y EEUU)⁷, a partir de estos se desarrolló una pandemia que duró 144 días y afectó a 32 países, de modo que la OMS declaró el estado de alerta mundial. Más de 8273 personas se vieron afectadas (con 775 muertes), con una tasa de mortalidad del 10% que aumentaba al 50% en las personas ancianas.⁷⁵

- *La emergencia de MERS-CoV*: la epidemia se desarrolló en Abril de 2012, en el Hospital de Zarqua en Jordania (Península de Arabia). ⁷⁶ Para Marzo de 2016, se habían notificado 1.694 casos a la OMS, de los cuales 665 fueron mortales. ⁴⁶ La mayoría de los casos se concentraban en Arabia Saudí y Qatar. El MERS se ha identificado en 26 países de África, América, Europa y Norte de Asia, la mayor parte de ellos asociada a la epidemia del Medio Oriente.

En una reciente revisión, ⁵⁶ de la transmisión de los MERS, se estableció a los dromedarios como reservorios de la infección humana. Por otro lado, el receptor del virus, la proteína DPP4 sugiere que no solo los dromedarios pueden ser potenciales fuentes de infección. De hecho ya se sabe que los cerdos, ovejas, bóvidos, caballos, conejos, tití, y macaco Rhesus, son susceptibles a esta infección (se desconoce en perro y gato). El cuadro clínico varía de asintomático a neumonía grave con dificultad respiratoria, shock séptico y fallo renal que conduce a la muerte. ⁷⁷ El 75% de los enfermos muestran otra enfermedad concomitante y los pacientes que mueren suelen tener patologías subyacentes.

2.4. Tipos de coronavirus felinos: tipo I y tipo II

Existe en la naturaleza dos biotipos de coronavirus felinos (FCoV de sus siglas en inglés), según se determina por serología y secuenciación. El tipo I (ya sea CEFV o FIPV) es específico de los gatos, mientras que el tipo II (ídem), es el producto de una recombinación entre FECV tipo I y el CCoV canino. Las diferencias serológicas se encuentran en la proteína S.⁵¹

El tipo I predomina en Europa y América, mientras que en Asia llega a detectarse hasta un 25% del tipo II. No es fácil saber el origen del tipo II, más bien parece que se está generando

continuamente. Estas recombinaciones suelen ser complejas. Se asume que los FIPV de tipo II son más virulentos que los del tipo I, por la facilidad con la que se multiplican en varios tipos de líneas celulares caninas y felinas, y se transmite más fácilmente entre los gatos. Además, El tipo I, probablemente infecta el íleon y colon, y el tipo II el epitelio del intestino delgado.

2.5. La infección por coronavirus entéricos felinos (CEFV) y su paso a PIFV

La infección del gato por CEFV es subclínica cursando con una diarrea leve, generalmente de intestino delgado o de colon. La inmunidad que produce suele ser de escasa duración, de modo que el gato vuelve a ser susceptible a la infección, que, generalmente, es similar a la primera.⁴⁷ La transmisión del virus es principalmente indirecta, a través del contacto con las heces y fómites contaminados, mediante la ingestión y posiblemente inhalación del virus. La transmisión transplacentaria es extremadamente rara. El 13% de los gatos infectados en forma natural se convierten en portadores de por vida, liberando continuamente la misma cepa de virus por la materia fecal, aunque rara vez desarrollan PIF.³ Además, el estrés provoca un incremento en la liberación del virus.^{1,3}

Una vez ingerido el virus, se dirige al intestino delgado donde se adhiere al borde del epitelio intestinal. Posteriormente se une al receptor del enterocito mediante un ligando de la proteína S que favorece la unión y posterior fusión con la membrana celular donde se multiplica en su citoplasma provocando la muerte de la célula. Al morir la célula, se liberan partículas virales que infectaran a enterocitos cercanos. Todo esto provocará que el sistema inmune responda a nivel generalmente local, dando lugar a la sintomatología clínica del coronavirus entérico, una respuesta inflamatoria local o enteritis. El segundo día post infección el virus estará presente en la materia fecal donde se liberará al exterior. También cabe la posibilidad de que el virus se replique en amígdalas y orofaringe en infecciones tempranas, liberándose en algunas horas o días en fómites.^{1, 47}

Al inicio de la infección se detectan pequeñas dosis víricas en los monocitos sanguíneos y durante semanas o meses, incluso años, se excretan elevadas dosis del virus en las heces.⁷²

Los CEFV son difíciles de cultivar in vitro, pero se ha producido una línea de ileocitos/colonocitos en Bélgica⁹ que ha permitido cultivar el FECV tipo I, aunque no se ha conseguido reproducir los virus a partir de tejidos de casos de PIF, lo que corrobora la incapacidad de los PIFV para multiplicarse en epitelio intestinal y que los CEFV son los que circulan entre los gatos.⁹

2.6.El origen de los virus de la PIF

El paso de CEFV a PIFV tiene lugar en un mismo ambiente, ocurre de forma diferente en cada gato y se ha asociado a 3 genes distintos. Cada mutación es una consecuencia de la presión selectiva particular, que origina el cambio del tropismo por los enterocitos a los monocitos/macrófagos, así, la supervivencia y replicación en los macrófagos peritoneales les permite escapar de la inmunidad del hospedador.^{6, 26, 51}

La mutación de los CEF se produce en los macrófagos, convirtiéndose éstos en sus células blanco, de esta forma la patología pasa a ser una enfermedad sistémica. Ésta es una enfermedad inmunomediada que involucra al virus o antígenos virales, anticuerpos antivirales y complemento, ya que se demuestra la presencia de complejos inmunes circulantes en gatos con PIF, los gatos que no tienen anticuerpos anti-CoVF no desarrollan PIF. Generalmente se asume que una alta respuesta inmune mediada por células (RIC) resulta protectora contra el PIF, en cambio, al menos algún tipo de respuesta inmune humoral es dañina, esto se debe al papel opsonizador de los anticuerpos, que favorecen la captación del virus por los macrófagos con mayor eficiencia.⁴⁷

Comparando la proteína S de los FCoV tipos I y II, se ha visto que en cepas del FIPV del FCoV tipo I hay una zona adicional de rotura entre S1 y S2, que no se haya en FCoV tipo II ni en otros *alfacoronavirus*. En esta zona de ruptura se han asociado mutaciones que podrían estar implicadas en el paso de CEFV a FIPV. En esa zona se ha observado la inserción de 16 aminoácidos que forma un asa extra en la estructura de la proteína S, haciendo que la zona de ruptura entre S1 y S2 sea más asequible a la acción proteolítica. Esta mutación tiene lugar en fases iniciales de la conversión de CEFV en PIFV³¹ y parece que surgen como una adaptación de los CEF para replicarse mejor en los monocitos/macrófagos, pero no en procesos posteriores de interacción virus-hospedador.³⁷ Una vez en el interior de la célula del hospedador, el virus libera la cadena positiva de ARN en el citosol.²⁴

Las mutaciones de los CEFV ocurren con frecuencia, y la del gen S es la primera asociada a PIFV. Chang et al. (2012)⁶ observaron que el 96% de los PIFV (obtenido de las formas seca y húmeda), sufren una única mutación (124/129), en el gen que codifica el péptido de fusión, y posteriormente se ha detectado una segunda mutación de 2 nucleótidos. En cualquiera de los casos, estas mutaciones no se observan en los CEFV. Se sugiere que estos cambios serían los responsables del aumento del tropismo por los macrófagos, ya que se encontraron en tejidos, pero no en heces. Es probable que ocurra en los monocitos/macrófagos, pero no en los enterocitos.

Por otro lado, la síntesis de la proteína N es esencial para proteger al del ARN vírico y para el ensamblaje del virión. Los virus que se han ensamblado se abren camino hacia la superficie de la membrana celular donde serán liberados por exocitosis como viriones maduros. En este proceso el virus incorpora proteínas de varios compartimentos celulares. Este hecho podría favorecer su supervivencia de cara a las defensas del hospedador.²⁴

Las mutaciones en este proceso de multiplicación ocurren con cierta frecuencia. Chang et al, en 2012⁶ comparó el genoma completo de 11 pares de virus CEFV-PIFV, y observó substituciones en al menos 2963 nucleótidos, lo que representa el 10% del genoma. In vivo, se han visto también otro tipo de mutaciones que dan lugar a inserciones, deleciones y codones de detención prematura, así como recombinaciones, en y entre los diferentes hospedadores.⁵² Las mutaciones que no afectan a la supervivencia del virus, prosperan y se acumulan con el tiempo, pudiendo llegar a ser predominantes, tanto en micro como en macro ambientes (gaterías, regiones geográficas, etc.).⁵² La recombinación añade variaciones genéticas entre los coronavirus en el mismo gato, entre gatos o también puede ocurrir con los coronavirus de otras especies. Por ejemplo, el FCoV tipo II es resultado de la recombinación en la región del gen S de coronavirus felino tipo I con la del coronavirus canino. La proporción de tipos I y II (tanto CEFV como PIFV), es variable a nivel global, aunque el tipo I es predominante. En un estudio realizado en Portugal,¹⁴ el tipo I se encontraba en un 79%, el tipo II en un 3,5%, y un 17,5% no pudo ser tipificado.

Como alternativa a la teoría de la mutación interna también se ha considerado la recombinación entre *diferentes cepas de virus* como causa de mutación de CEFV a PIFV.⁶³

2.7. La Peritonitis infecciosa Felina

2.7.1. Epidemiología de la PIF

En un estudio reciente, se vieron variantes que afectan a la incidencia de PIF: el sexo (mayor en machos), la edad (mayor en animales jóvenes, y en animales a partir de 10 años), su entorno (mayor si el animal convive con otros gatos como colonias callejeras, criaderos o refugios, etc.), el estrés (la adopción, refugios, cirugías...).⁵⁷

Una vez que se desarrollan los primeros signos clínicos, la letalidad comienza a ser alta, aunque hay gatos que llegan a sobrevivir semanas, meses e incluso años.^{2, 12, 51} Los gatos que nacen en colectividades y ambientes contaminados son infectados con CEFV presente en las heces de gatos aparentemente sanos (a una edad media de 9 semanas de edad) por vía feco-oral, o fómites presentes en su entorno. Probablemente esta primera infección es la más proclive a favorecer la mutación a PIFV, ya que se multiplican muy activamente en los gatitos.^{49, 72}

Los primeros signos clínicos de PIF pueden observarse tras 2 o 3 semanas post infección, o bien, tardar meses o años. Estos periodos de tiempo podrían ser un reflejo del tiempo que tarda en producirse la mutación de CEFV a FIPV, o bien, al paso de un estado subclínico a clínico, ya que la infección subclínica se suele limitar a los ganglios mesentéricos de modo que su evolución podría ser a la curación o bien progresar en un futuro hacia la PIF, en función de los factores genéticos, de la edad de exposición y de factores estresantes en el momento de la infección.^{47, 51} En algunos gatos, se observan periodos de aparente recuperación una vez comenzados los signos clínicos, pero posteriormente vuelven a recaer, debido a periodos de estrés o cambios. Una vez más la evolución de la enfermedad se ve afectada por la edad, en gatos más jóvenes es más rápida que en adultos. Otro factor a tener en cuenta es la forma clínica que se desarrolle, ya que suele ser más rápida la forma efusiva que la no efusiva.

2.7.2. Inmunopatogénesis del virus de la PIF

Como se ha descrito anteriormente, una vez que el coronavirus entra en el animal, las primeras células diana que ataca son los enterocitos, donde se produce la multiplicación vírica que da como consecuencia una inflamación local que provoca una enteritis. Una vez se ha producido la mutación del CEFV en los macrófagos del animal, el virus pasa a la sangre, donde madura y se replica en los monocitos. A partir de aquí, se produce la adhesión del monocito a los endotelios vasculares, en los que produce diapédesis y disrupción de los vasos sanguíneos. A su vez se produce un aumento de la interleuquina 1, TNF- α y Adhesinas (CD11a, CD18), que provocan el aumento de los linfocitos auxiliares y que los TH2 se activen (con disminución de la interleucina 12), y el aumento del número de anticuerpos y células B circulantes.⁴⁷

A su vez, la unión del antígeno con el anticuerpo provoca una reacción de hipersensibilidad de tipo III lo cual dará como resultado la efusión. Además esta reacción de hipersensibilidad aumenta la fagocitosis como respuesta frente al antígeno, lo cual aumenta el número de macrófagos activos. Una vez que los macrófagos están activos y se produce en ellos la multiplicación viral, esto da como consecuencia un aumento de la interleuquina 6 y del CD40, y se producen los piogranulomas vasculares, en los cuales están implicados macrófagos, linfocitos y neutrófilos. Además el aumento de la interleuquina 6 y del complemento provoca un aumento de células B y anticuerpos que estimula más la reacción de hipersensibilidad tipo III, y con ello las efusiones.^{45, 47, 70}

La inmunidad protectora es la mediada por células. La producción de Acs es contraproducente, ya que estos favorecen la captación y replicación del virus en los macrófagos contribuyendo al desarrollo de hipersensibilidad tipo III y la vasculitis.⁵¹ En función del tipo de PIF que presente el gato, se observaran diferentes respuestas celulares frente al virus. En la forma efusiva no

hay respuesta inmune celular (RIC) suficiente para controlar la infección en los macrófagos, teniendo en cuenta que una alta RIC, podría contrarrestar el efecto negativo de los Acs. En cambio, en la forma seca se da una situación con RIC intermedia, que sólo controla parcialmente la infección de los macrófagos en presencia de Acs, de modo que se aprecia un menor número de macrófagos infectados en determinados órganos. Las dos formas son intercambiables, presentando en fases iniciales la forma seca, y terminando como forma húmeda en fases terminales. Parece que en los gatos con PIF se observa una depleción grave de células NK (Natural Killer, o Células asesinas) y Tregs (Células T reguladoras), con reducción de la función de las células NK, reduciendo la capacidad de la RI innata para atacar al virus y suprimir la respuesta inflamatoria e inmune.^{45, 47, 70}

Sin embargo existen diferencias genéticas entre los biotipos CEFV y PIFV que determinan la RI y la forma de la PIF en el gato. Los gatos sanos que viven en gaterías con CEFV enzoótico, presentan más alta concentración de IFN- γ en el suero que en los gatos de gaterías con casos de PIF. La producción de IFN- γ y la inmunidad mediada por Células T es fundamental en la protección frente al desarrollo de PIF.²²

La exposición del animal a CEFV o PIFV virulentos, o la administración de forma pasiva de sueros inmunes de gatos infectados con CEFV o PIFV, favorece el desarrollo de PIF, debido a la presencia de Acs frente al FCoV, lo que se llama fenómeno de “agravamiento dependiente de anticuerpos (del inglés “antibody-dependent enhancement”: ADE),^{47,66}. Los epítomos directamente relacionados con el ADE parecen residir en la proteína S. Se han estudiado 81 péptidos sintetizados a partir de la región S2. Mediante Acs monoclonales se detectó un virus con 2 cambios de aminoácidos en la zona del epítipo neutralizante de la proteína S, que le hacía resistente a la neutralización. Esos mismos Acs también hacían perder su habilidad para la replicación del virus homólogo, lo que sugería que la neutralización y el fenómeno ADE están presentes en la misma región de la proteína S. Éste mutante también tenía mayor dificultad para la replicación en monocito/macrófagos,⁶⁷ en cualquier caso, parece que se trata de otro mecanismo de evasión del sistema inmune.

Otro sistema de evasión parece estar relacionado con la internalización de proteínas víricas en los monocitos, lo que les permite escapar de la acción de los Acs,⁷¹ se han identificado proteínas kinasa internas y citoesqueléticas, que están involucradas en la internalización y consiguiente transporte del PIFV. La miosin-quinasa de cadena ligera y la miosina 1, parecen cruciales para iniciar el proceso de internalización. Se está estudiando un fármaco antivírico que actúe frente a estas proteínas. Se ha planteado la posible susceptibilidad de origen genético, a desarrollar PIF⁵¹.

En un estudio del genoma con gatos Birmanos se identificaron 5 regiones en 4 diferentes cromosomas que podrían estar relacionados con la susceptibilidad. Esos 5 genes estaban relacionados con importantes procesos que se observan en la PIF, tales como la migración celular, la fagocitosis, apoptosis e interacciones virus-hospedador ²³. Sin embargo, los gatos que desarrollan Acs tras la infección natural, no suelen desarrollar PIF, pero no previenen la reinfección. Los gatos infectados por primera vez tienen una alta probabilidad (17%) de desarrollar PIF en 6 a 18 meses, mientras que a partir de los 36 meses desde la infección, la probabilidad es de un 4%. Si ya se habían infectado antes, la probabilidad es del 8%. Esto también obliga a que los donantes de sangre sean seronegativos.

2.7.3. Signos clínicos y lesiones de la PIF

En cuanto al cuadro clínico, de forma inicial, los animales presentan signos no específicos ni localizables como fiebre, anorexia, inactividad, pérdida de peso, vómitos, diarrea, deshidratación y palidez (anemia). Los gatos con una fuerte respuesta inmune celular (RIC) pueden quedar en estado de infección de aparente latencia que podría ser reactivada si son inmunodeprimidos, los gatos con RIC y RIH media presentan la forma no efusiva o seca, y los gatos que no desarrollan RIC y sí RIH presentan la forma efusiva o húmeda. Hay gatos que presentan una mezcla de las dos formas. Como signo temprano de PIF estaría la fiebre fluctuante que no responde a los antibióticos. ^{2, 47} Pero hay gatos que no muestran nada en esta fase. Además, los signos clínicos presentes en la PIF son consecuencia de la vasculitis y de las lesiones en los órganos a causa del daño en los vasos sanguíneos que circulan a través de ellos. En cachorros tanto neonatales como prenatales, antes del destete, cursa con síntomas respiratorios, diarrea y adelgazamiento... No causa infertilidad ni la muerte.

La PIF puede clasificarse en cuanto a sus signos clínicos en dos formas:

-La forma no efusiva o seca, el curso es más lento, insidioso y latente (meses). Los síntomas dependen del grado de alteración de los órganos parenquimatosos (insuficiencia de los órganos afectados), debido a los piogranulomas vasculares. Estas lesiones suelen localizarse en múltiples tejidos, especialmente en ojos, encéfalo, hígado y riñones.^{1, 2} A la palpación se detectan los Gl. linfáticos aumentados, superficie irregular de los riñones y nódulos en otras vísceras. Si el pulmón está afectado, muestra disnea y placas densas en la radiografía. Un 15 % de los casos puede presentar afección ocular y suelen sobrevivir un año o más. Comienza con una uveítis anterior, que evoluciona a queratitis, hifema, hipopión, corioretinitis, hemorragias, desprendimiento de la retina, sinequias, disminución de la presión intraocular y protusión de la

masa granulomatosa. Aunque el gato no muestre estas lesiones, se puede observar manguitos vasculares en los vasos de la retina (fondo ocular).^{1, 2}

-*La forma efusiva o húmeda:* en gatos jóvenes puede presentarse de forma repentina, y evoluciona hasta la muerte generalmente en 3-6 semanas, excediendo ocasionalmente hasta 6 meses. Además, el animal puede mostrar periodos de enfermedad intermitente con periodos de estabilización aparente y sobrevivir así varios años.⁴⁷ El aspecto general puede estar afectado o no, puede presentar o no una hipertermia ligera (39 a 39,5°C), pérdida de peso y anorexia. La Ascitis (hasta 1 litro, y no dolorosa) es más frecuente que la efusión torácica, presentando un abdomen aumentado y fluctuante. Esto se debe a que los vasos sanguíneos se ven afectados, se producen exudados de fluidos y proteínas plasmáticas a diferentes cavidades corporales, produciéndose así un derrame de líquido proteico en la cavidad del peritoneo, en el espacio pleural y en espacios como pericardio escroto, cavidad subscapular de los riñones...Además el animal puede presentar disnea, taquipnea, inflamación del escroto, sonido cardíaco atenuado, palidez o ictericia de mucosas. Raramente aparecen hidropericardias y fallo congestivo cardíaco. También se palpan masas abdominales debido a la adhesión de las vísceras con el omento. Los ganglios mesentéricos pueden estar aumentados.

Una forma poco frecuente es la *PIF colónica o intestinal* que se da en algunos gatos jóvenes. En este caso los granulomas solo se localizan en intestino, y generalmente están en el colon o en la unión ileo-cecocolica. Entre los síntomas destacados estarían la constipación, la diarrea y los vómitos crónicos. La palpación muestra un aumento del tamaño del intestino. En sangre se observa mayor número de los cuerpos de Heinz. En radiografía, la forma colónica puede confundirse con un linfoma digestivo por FeLV.^{1, 2}

Un 12,5 % de los gatos con PIF muestran síntomas nerviosos, y en la forma seca son un 25-33%. Los síntomas nerviosos se presentan a su vez en un 60% de esos casos con lesión ocular. El animal suele mostrar ataxia seguida de nistagmo, espasmos e hiperestesia. Si hay meningitis se observa incoordinación, hiperestesia, cambio del comportamiento, temblores, espasmos y fiebre sin explicación.^{1, 2}

En cuanto a las *lesiones* de la PIF ^{1, 2}:

-En la *forma seca*, los órganos de la cavidad abdominal están aumentados de tamaño y presentan una superficie con formaciones densas e irregulares, que pueden observarse en radiografía, ecografía o palpación. En el cerebro las lesiones suelen ser menos evidentes, a veces solo se observa hiperemia. A nivel microscópico, se observan infiltrados inflamatorios piogranulomatosos, vasculitis (vénulas o arteriolas rodeadas de un área de necrosis), e infiltración perivascular de monocitos, macrófagos, linfocitos, C. plasmáticas y neutrófilos.

-En la *forma húmeda* se aprecian en los órganos y serosas, los cuales pueden verse cubiertos por un pequeño punteado (1-2 mm) blanquecino que corresponde con los piogranulomas.

2.7.4. Diagnóstico de la PIF

Es una enfermedad de difícil diagnóstico por no existir una prueba laboratorial específica para ello. La sospecha de la enfermedad se basa en los primeros datos epidemiológicos y clínicos del animal, seguidamente se plantearán una serie de pruebas hematológicas, bioquímicas y de detección de Acs, Ag y ARN del virus.^{1, 2, 48}

La relación de los datos epidemiológicos como la edad (entre 4 meses y 3 años), la proveniencia de colonias callejeras o de colectividades con alta densidad felina, junto con la presencia de fiebre persistente pero fluctuante y la no respuesta al tratamiento antibiótico, debe considerarse una sospecha de padecer PIF. Si además se observan signos más específicos como ascitis, disnea, efusión pleural, ictericia, hiperbilirrubinemia, masas detectables en riñones y/o en ganglios mesentéricos, uveítis y signos neurológicos (asociados a la afección cerebral o de la médula espinal), se podrá orientar el diagnóstico hacia la forma seca o húmeda.^{1, 2, 48}

Si los dueños quieren tener una confirmación laboratorial dado el pronóstico fatal de esta enfermedad. En este caso, es difícil elegir los test más apropiados. Los análisis indirectos como la hematología o la razón albúmina/globulinas, puede ayudar en gatos con fuerte sospecha clínica. En ocasiones, estos datos pueden confundirse con otras afecciones felinas, por eso deben comprobarse con una prueba específica.^{1, 2, 48}

- Métodos destacados de diagnóstico:

1. Hemograma, bioquímica y otras: la demostración de anemia crónica no regenerativa, o anemia normocítica normocrómica moderada, con un recuento plaquetario bajo, con leucocitosis, con un aumento de neutrófilos (prevalencia del 44% de los gatos con PIF), y con un descenso de linfocitos junto con aumento de las proteínas séricas (asociado a hiperganmaglobulinemia y baja albúmina, que dan una razón A:G < 0,8), apoyan el diagnóstico clínico, ya que se ha observado en un 85% de los casos.⁵⁶ Cuando la prevalencia de casos PIF es baja, si la razón A:G es alta, es de gran ayuda para descartar PIF, pero en caso contrario, no es confirmativo de PIF^{3, 32}. Las proteínas totales y la globulinas elevadas son bastante frecuentes (la hiperglobulinemia se observa en un 89% de los casos)⁵⁶ en la PIF, pero si no hay otras alteraciones típicas que lo apoyen, se debe hacer electroforesis para comprobar qué es lo que

produce esa elevación, ya que, según el estudio de Taylos y col (2010) ⁶⁹ en suero de 136 gatos de los que se tenía el diagnóstico final, las anomalías proteicas en suero podían tener origen en infección/inflamación en un 58,8% de ellos, de los que casi un 50% se debían a PIF. La hiperbilirubinemia e hiperbilirubinuria son frecuentes ($\geq 50\%$ de los casos) ⁵⁷, más en la forma efusiva, pero no se suelen asociar a un aumento de las enzimas hepáticas; ² además no se observa colestasis, por lo que éste aumento se asocia a la destrucción de los hematíes, tanto en las lesiones como en la sangre, y sumado a la dificultad de eliminar los productos generados por la hemoglobina. También se ve una elevación de ALT, FAS, y azotemia. No siempre hay que esperar que en los gatos con PIF se produzcan todas estas anomalías en su conjunto, será la suma de los datos lo que nos ayudará a realizar el diagnóstico. En el caso de afección renal, se busca proteinuria.

2. El **test de Rivalta** es una prueba antigua (se ha utilizado desde principios del siglo XX), usada en Europa para favorecer la confirmación del diagnóstico de PIF húmeda. La prueba es sencilla, consiste en una solución de ácido acético (5 ml de agua destilada con una gota de ácido acético al 98%) en un tubo a la que se añade unas gotas de líquido ascítico o pleural. Si la gota flocula, toma color blanquecino y va descendiendo a lo largo del tubo, se considera positivo. Se le ha atribuido una sensibilidad del 91% y una especificidad del 66%, un VPP (valor predictivo positivo) del 58% y un VVN (valor predictivo negativo) del 93%. Pero estos resultados aumentan si se excluyen los casos de linfosarcoma e infecciones bacterianas, o los animales de más de 2 años. Aunque resulta fácil de realizar en la clínica, puede haber algo de subjetividad en la interpretación ^{1, 2, 57}.

3. En el caso de PIF húmeda la **abdominocentesis y/o toracocentesis** es de gran utilidad, el líquido suele ser característico de color ambarino, gelatinoso, viscoso, con un alto contenido proteico ($>3,5$ mg/dl), alta densidad (1,017- 1,047) y variable contenido celular (de 500 a 25.000/ μ l), predominando los neutrófilos y los macrófagos.^{1,2} Generalmente se encuentra en la cavidad abdominal, pero también puede encontrarse en la pleural. Su color ambarino se debe a la presencia de bilirrubina, aunque puede ser verdoso (biliverdina), a consecuencia de las microhemorragias y de la lisis de hematíes producida por los macrófagos. Frecuentemente se producen coágulos cuando se observa en el tubo. La presencia de células es escasa y formada por neutrófilos y macrófagos, pero baja proporción de linfocitos. Generalmente no adquiere aspecto hemorrágico, salvo en alguna efusión pleural, aunque al microscopio se observan pequeñas cantidades de hematíes y restos de fibrina.

4. La **ultrasonografía y la radiografía** puede ayudar en aquellos casos en los que no se detectan efusiones, o sólo un pequeño volumen. La radiografía no es tan sensible a nivel abdominal pero sí a nivel pleural. Además es posible detectar anomalías morfológicas de los órganos y de los ganglios mesentéricos ¹.

Cuando existe afección intraocular y signos neurológicos, que suele presentarse en gatos jóvenes y en la forma no efusiva, se manifiesta con uveítis, que debe ser diferenciada de la uveítis idiopática. Al comparar estas dos afecciones clínicas Wiggans et al (2013), ⁷³ estudiaron citologías del humor acuoso y observaron que la duración de la uveítis es más corta en los casos de PIF. En los gatos con uveítis idiopática, el ácido nucléico, los antígenos o los anticuerpos del agente causal, se encuentran en la sangre o suero, mientras que en la PIF, se detectaban solo Acs en el suero a títulos mayores de 1/6.400 frente a FCoV. En los gatos con PIF predominan neutrófilos en el humor acuoso, pero en los que padecían uveítis idiopática se observaba con más frecuencia la presencia de células plasmáticas y linfocitos.

En la PIF con afección neurológica, el líquido cerebroespinal muestra una elevada concentración proteica (56- 348 mg/dl, siendo normal 25 mg/dl) y un aumento de leucocitos con predominio de neutrófilos. ^{1, 57}

5. Pruebas serológicas: las pruebas de **ELISA y seroneutralización** sólo indican que el animal ha estado en contacto con coronavirus, no se conocen Acs específicos de virus productores de PIF y no se diferencian los Acs frente CEFV o PIFV. Los títulos tienden a ser altos en todos los gatos de ambientes donde hay casos de PIF. De todos modos, si se realizan bien, pueden ser de ayuda para el diagnóstico. Muchos gatos sanos que son expuestos a CEFV tienen títulos que van de 1/100 a 1/400 (por inmunofluorescencia indirecta, IFI), y hay muchos gatos con PIF que tienen esos títulos. La posibilidad de que el título esté relacionado con PIF aumenta conforme más elevado es el título. Hay pocos gatos con títulos de 1/1600, mientras que títulos mayores o iguales 1/32.000 tienen altas posibilidades de ser PIF. ²⁷ Por el contrario, títulos menores a 1/100 raramente excretan CEFV en sus heces, mientras que los que tienen títulos de 1/400, sí excretan el virus en las heces, ⁴⁸ y por lo tanto, son infectantes. Cuando un gato con PIF muestra bajo títulos de Acs es difícil de interpretar, ya que podría significar que el virus circula en sangre y que está presente en las efusiones, y en consecuencia, se une a los Acs y se produce el descenso del título de Acs libres en el suero/plasma. Estos gatos que padecen PIF y dan bajo título de Acs, cuando se les realiza la RT-PCR en los fluidos, se detecta una alta carga de ARN del virus que se correlaciona con los resultados de bajo título de Acs obtenidos por IFI, ELISA y test rápidos inmunocromatográficos (70% de las muestras estudiadas). Sin embargo,

un 5% de gatos con bajo título de Acs en suero o efusiones, han sido negativos a RT-PCR, por lo que se deduce que no sólo es la carga vírica lo que disminuye el título de Acs.⁴⁴

Los intentos de desarrollar tests de detección de Acs más fiables y específicos no han tenido éxito. El test más clásico es el basado en la detección de Acs frente al 7b (proteína del gen ORF 7b), ya que se pensó que los CEFV carecían de esta proteína, en comparación con los PIFV.⁶⁷ Hoy se sabe que todos los CEFV y PIFV pueden poseer el gen ORF 7b, por lo tanto todos pueden producir Acs frente a 7b, y no se puede diferenciar del a PIFV.⁴⁸ Los test ELISA son muy populares, pero se prefiere la IFI. Como test para las clínicas, se están utilizando pruebas inmunocromatográficas, entre ellas, la que usa como antígeno la proteína de la nucleocápside (N) de un FCoV recombinante, es sencilla y rápida e incorpora un paso de reacción con proteína A (para detectar la presencia de Acs unidos al antígeno) y ha mostrado especificidad y sensibilidad similar a la de los ELISA estándar, tanto para detectar Acs en suero, en plasma, en sangre entera y en líquido ascítico.⁶⁴

6. Las **pruebas basadas en PCR**,^{1, 5, 18, 44, 48} indican que ha habido contacto del animal con algún coronavirus y se vienen usando desde hace más de 20 años. El ARN se extrae de heces, de sangre, de tejidos o de fluidos, pero es necesario revertirlo a ADN complementario (ADNc) para detectarlo. Posteriormente se amplifica miles de veces una determinada región del ADNc, y el producto identificado, se observa por electroforesis. Se han desarrollado tests cada vez más depurados para aumentar la sensibilidad y la especificidad. Mediante PCR anidada se ha conseguido un 90% de sensibilidad para detectar PIFV en líquido ascítico de la forma efusiva. Sin embargo esta prueba puede contaminarse con numerosos productos de la PCR dando una reacción falsa positiva. La contaminación se puede controlar usando la q-PCR (cuantitativa o PCR en tiempo real), por eso es el test más usado. Es muy sensible y específico para detectar y semi-cuantificar el FCoV en las heces. Por otro lado estos tests tienen una serie de variables que afectan a la sensibilidad y especificidad. Los fallos pueden venir de la muestra recogida, el método de extracción y de conservación. El diagnóstico por pruebas basadas en PCR se le ha atribuido un grado de fiabilidad del 80-90% en tejidos de gatos confirmados de PIF, sin embargo, en un estudio realizado con efusiones peritoneales era de sólo un 44% (en gatos sospechosos de padecer PIF y no confirmados). Por otro lado, estos test daban entre un 78-92% de fiabilidad en razas puras, y descendía a un 35% en razas mestizas.^{15, 48, 62} La *q-PCR*, además de usarse en fluidos y tejidos, también se ha usado en sangre, pero tanto CEFV como PIFV, se pueden encontrar en la sangre. Se le atribuyó un 93% de diagnósticos positivos en gatos confirmados de PIF, y no dio positivo en gatos con otras enfermedades. Sin embargo, en otro estudio, un 54% de gatos sanos, especialmente en los de edad entre 6-12 meses, también

daban positivo, y esto se confirmó experimentalmente,^{34, 72}. Esto demostraba la presencia de viremia (monocitos/macrófagos positivos) en gatos con infección intestinal, siendo positivos un 40% hacia el día 14 postinfección y permaneciendo virémicos hasta el día 48, en un 14% de ellos. El único modo de evitar los problemas de la coinfección con CEFV es diseñar tests específicos para mutaciones únicas de FIPV. Las mutaciones en el ORF 3c y en la zona de ruptura del gen S1/S2, es única en los PIFV, por ello son buenos.^{5, 6, 51, 52}. La mutación más específica son 2 únicos cambios de nucleótidos en la región de fusión de la proteína S de superficie.⁵ No se ha informado de si esto ocurre en la sangre en niveles detectables. De todos modos, es posible que los gatos con infección subclínica o abortiva puedan dar resultado a esas regiones mutadas.⁵³ Incluso si se desarrolla un test muy sensible y específico, parece que muchos gatos con infección natural no presentan niveles detectables de ARN en su sangre, ya sea en el plasma como en la fracción de leucocitos.

Recientemente¹⁸, se ha desarrollado una combinación de la q-PCR y PCR anidada (RT-nPCR) que detecta las mutaciones de 2 nucleótidos en el gen S. Se ha evaluado en 64 gatos con PIF confirmada y en 63 con signos de PIF provocados por otras infecciones. Usaron el suero o plasma y/o efusiones y detectaron el ARN por la RT-nPCR. De este modo se estableció una especificidad de la prueba del 100%, con todas las muestras, ninguno de los gatos del grupo control dieron resultado positivo. La sensibilidad de la RT-nPCR junto a la secuenciación fue del 6,5% en el suero/plasma, y del 65% en las efusiones. Los autores concluyen que el resultado positivo es altamente indicativo de ser PIF, pero como ninguno de los gatos del grupo control dio positivo, no se pudo confirmar si esas mutaciones son sólo exclusivas de los gatos con PIF. Por otro lado, el resultado negativo no excluye la posibilidad de que sea PIF, sobre todo si la muestra es de suero/plasma. Un estudio de la titulación de Acs frente a FCoV (títulos $\geq 1/1600$) y q-PCR en efusiones de gatos con PIF confirmada,⁴⁰ dio como resultado que ninguna de las dos técnicas usadas como única prueba, garantizaban un resultado seguro, por ello recomiendan realizar ambas simultáneamente. Esto no impide que los resultados se analicen en relación a los datos clínicos y hematológicos.

7. La realización de una **necropsia** y el adecuado **estudio histopatológico** de los tejidos afectados, es muy útil para confirmar el diagnóstico de PIF postmortem. Sin embargo, la observación macroscópica no es suficiente y pueden confundirse con neoplasias. Es completamente necesario confirmarlo por **Inmunohistoquímica, (IHQ)**, la lesión esencial de PIF es el piogranuloma, y no siempre es definitivo. Los métodos de inmunotinción, usados in vivo, tanto para tejidos como para fluidos de las cavidades son la Inmunofluorescencia directa (**IFD**) o la Inmunoperoxidasa (**IPO**), y son tan fiables como la q-PCR.⁴⁸ La IFD es más sensible

que la IPO, pero requiere los cortes al criostato para los tejidos, por otro lado la **IPO** se puede realizar en tejidos fijados con formol. Si la fijación con formol y la inclusión en parafina no es rápida, se puede alterar el resultado. En la IPO puede haber casos falsos negativos. Se debería realizar más de lo que se hace actualmente en las efusiones o fluidos, ya que la efusión contiene cantidad de macrófagos positivos si se trata de PIF, en particular si las células son concentradas por centrifugación. También ha dado buen resultado de macrófagos en L.C.R. de gatos con cuadro neurológico. Puede haber falsos positivos porque los macrófagos pueden presentar positividad no específica.³⁸ Se compararon los resultados de la IFD en las efusiones, realizada antemortem, con la IFD en tejidos postmortem; de 17 gatos, en 10 coincidió el diagnóstico positivo antemortem y postmortem, en 7 que fueron dado como negativos antemortem, 2 fueron positivos postmortem. La sensibilidad fue del 100%, mientras que la especificidad quedaba en un 71,4%. Además, para diagnosticar PIF definitivamente, se debe demostrar vasculitis.³⁸

2.7.5. Tratamiento de la PIF

El fundamento del tratamiento se basa en **inhibir la multiplicación vírica y factores relacionados con la respuesta inflamatoria**. En este sentido, inhibir la respuesta inflamatoria no es suficiente por sí sola, pero puede funcionar cuando se combina con fármacos antivirales. Además se puede **estimular la respuesta inmune**, de forma no específica, con la esperanza de que le ayude a reaccionar, por sí mismo, frente a la infección.⁴⁸

Los **fármacos antivirales** pueden actuar sobre la maquinaria celular que utiliza el virus para replicarse, pero pueden afectar tanto al virus como al hospedador. Los que han dado mejor resultado son las que afectan a la región específica del genoma viral que regula el proceso de la infección y replicación. Se han basado en la terapia frente al HIV-1, que muestran un modo de replicación similar a los coronavirus, usando polimerasas ARN-dependiente y proteasas virales. La proteasa es una importante diana para intentar bajar la infección por el HIV-1 a un estado subclínico y crónico. Se han desarrollado inhibidores de las proteasas víricas como el **3CL**.³³ La **cloroquina**, usada en el tratamiento de la malaria, también inhibe la replicación de PIFV in vitro, además tiene acción anti-inflamatoria.⁶⁵ La **Ciclosporina A**, tiene acción anticoronavirus bloqueando la replicación.⁶⁸ El problema de estos antivirales es que actúan en puntos que afectan tanto a las células como a los virus.

Se han estudiado 16 fármacos antivirales en su acción sobre una cepa de coronavirus cultivada en "células de feto de gato-4".³⁰ La **aglutinina Galantus nivalis** (GNA) y el **Nelfinavir** (usado para inhibir al HIV-1), inhiben específicamente la replicación del coronavirus, aunque fallan

cuando aumenta la replicación vírica, tal como ocurre con los FIPV. Sin embargo, al utilizar ambos fármacos juntos, sí lo consiguen. Pero no hay estudios in vivo publicados.⁵⁹

También se ha investigado con **péptidos** que inhiben la replicación bloqueando el intercalado de las regiones de HR1 y HR2, que es necesaria para la activación de la fusión de la proteína. Además muestra acción sinérgica con el IFN- α humano. No se sabe cómo funcionarán in vivo.³⁹ Doki et al. (2015)¹¹, han desarrollado 30 péptidos del dominio de la secuencia S1 del FIPV tipo I (cepa KU-2S), para evaluarlo. De los 30 péptido seleccionaron dos (I-S1-9 e I-S1-16), fueron capaces de inhibir el crecimiento de cepas PIFV tipo I y II, y también inhibían al Herpesvirus y el Calicivirus felino (in vitro).

Hay numerosos fármacos con **actividad anti-inflamatoria e inmunosupresora**. La **prednisolona** y los fármacos como la **ciclofosfamida**, se han usado para reducir los signos clínicos, aunque no hay evidencia de que impidan el avance de la enfermedad^{1, 2, 48}. Se ha intentado inhibir citoquinas específicas importantes en la patogenia de PIF. El **Factor de Necrosis Tumoral (TNF)**, se cree que está relacionado con el desarrollo de PIF. El TNF- α se cree que produce el agravamiento de la enfermedad. Los Acs monoclonales frente a TNF- α se probaron en 3 gatos con PIF experimental¹¹ y en 2 de ellos se previno la progresión de la enfermedad mientras que el grupo control continuó con la evolución normal de la enfermedad. Los autores consideraban que podía ser una alternativa de tratamiento, sin embargo eran pocos animales en el estudio, y la enfermedad estaba en sus inicios cuando fueron tratados. La **pentoxifilina**¹⁹ se utiliza en las personas para controlar la vasculitis, y se ha probado en gatos con PIF, pero fallaba tanto en el tiempo de supervivencia como en la calidad de vida de los gatos con PIF.

Los inmunoestimulantes no específicos, que también se han usado mucho frente a la leucemia felina (FLe) y el síndrome de inmunodeficiencia felina (FIV). En algunos casos se informa de que se consiguen curaciones o aumento de la supervivencia con estos tratamientos, tales como la **proteína A estafilocócica**, la **Inmunoregulina** (de *Propionobacterium acnes*), **Acemanan** (mucopolisacárido extraído de las hojas de *Aloe vera*), e **Imulan** (inmunomodulador de los linfocitos T)⁴⁸. El **poliprenil-inmunoestimulante (PI)**, extraído de plantas, se ha informado como capaz de prolongar la vida de los gatos con formas leves de la PIF seca, esto se basa en el estudio realizado en 3 gatos, uno de los cuales se recuperó tras un tratamiento prolongado.³⁶ Pero estos gatos solo tenían el virus localizado en un único ganglio linfático, dos de ellos eran subclínicos en el inicio del estudio y el tercero estaba levemente afectado. Los autores indican que este tratamiento no es válido si la enfermedad está más avanzada. No tuvieron en cuenta, que los gatos en fases subclínicas o leves, pueden remitir la enfermedad por sí mismos. Por lo que se puede decir que no hay evidencia de que el PI sea curativo en la PIF.⁴⁸

Se recuerda que el uso de todos estos productos en el tratamiento de PIF está fuera de las recomendaciones del prospecto. Además pueden ser caros, y no hay evidencia de los beneficios. El régimen de dosis, frecuentemente no está ajustado a este tratamiento, se suele ajustar más a las posibilidades de que pueda ser administrado por los dueños. En ninguno de los bioestimulantes se ha estudiado su farmacocinética, farmacodinámica, ni la biodisponibilidad en los gatos, aunque todos parezcan seguros. Lo correcto sería recomendarlos cuando se hagan estudios bien diseñados que demuestren su validez. Es curioso que haya veterinarios que han usado inmunoestimulantes junto con predisolona, cuando se sabe que ambos fármacos tienen actividades contrarias.⁴⁸

2.7.6. Vacunas y profilaxis de la PIF.

Hasta el presente, no se ha encontrado el modo de prevenir o tratar la PIF. Se han estudiado varias posibles vacunas y muchas de ellas han fallado, resultando más infectados entre los vacunados que en el grupo control⁴⁷. Pese a que algunas de ellas muestran protección, solo una y de dudosa eficacia, ha llegado al comercio²¹. Esta vacuna está indicada para gatos seronegativos con riesgo a exposición. Ésta vacuna se comercializó en EEUU y Europa, se administra por vía intranasal y se produjo con la cepa mutante DF2 a partir del tipo II de FCoV, termosensible, adaptada al crecimiento a 31°C, e inhibida a temperaturas de 38-39°C. De esta vacuna se esperaba que produjera una respuesta en Acs IgA locales, en las mucosas, tanto respiratoria como digestiva, lo que impediría la infección por FCoV, y además, respuesta inmune celular, que es la única que se considera protectora frente al desarrollo de PIF. Según un estudio, realizado por la propia casa productora de la vacuna²¹, la vacuna induce Acs IgA detectados en lavados intestinales de los gatos vacunados, además de los respiratorios, pero en algunos gatos, las IgA no se desarrollan hasta que sufren el desafío experimental, es decir, que también es probable que esos gatos tampoco hayan desarrollado RIC. En cualquiera de los casos, no es suficiente para protegerles del desarrollo de PIF. En el resto de los gatos comprobaron que hay una reacción en ganglios locales que deja linfocitos sensibilizados (Células de memoria). El virus vacunal no se detectó fuera de la zona de administración de la vacuna, por lo que sugieren que los linfocitos activados en ganglios linfáticos locales, migran hacia el resto del sistema linfoide, ganglios, bazo y sangre y quedan con la impronta para que el contacto con virus salvaje desarrolle con rapidez la RIC, si el virus ha escapado a las IgA de las mucosas.²¹ Los resultados experimentales han sido inconsistentes, con un porcentaje de prevención comprendido entre el 0 al 75%, y los resultados en estudios de campo, han sido igualmente contradictorios.^{17, 42, 60} Estas grandes diferencias en los resultados se atribuyen a la utilización de diferentes cepas, dosis de virus de la infección de desafío y la predisposición

genética de los gatos del estudio.² En un estudio de campo realizado con 135 gatos de 15 criadores, en los que, virtualmente, todos los gatos tenían Acs frente a FCoV, no encontraban diferencias en el porcentaje de PIF desarrollado entre los vacunados y no vacunados, lo que indicaba que en situaciones de alto riesgo, la vacuna no es efectiva.¹⁷ Quizás pueda producir algo de protección en situaciones de bajo riesgo en gatos que nunca han contactado con FCoV previamente.¹⁷ Por otro lado, esta vacuna no debe ser usada en gatos que son seropositivos a FCoV. Sin embargo, en algunos estudios de campo se ha considerado que no se produce ADE y es segura.⁴⁷ Se utiliza a partir de la edad de 4 meses (antes de esa edad no se considera segura ni eficaz), con 2 dosis separadas 3 semanas y por vía intranasal.¹⁷ El problema es que en las colectividades felinas (criaderos, refugios, albergues, etc.), el ambiente suele estar contaminado con FCoV, y es conocido que los gatitos, al perder la inmunidad de origen materno (entre las 6 y 10 semanas de edad), se infectan en proporciones elevadas (hasta un 90%), lo que dificulta la vacunación a los 4 meses.⁸ Por otro lado, se desconoce la duración de la inmunidad, y las revacunaciones se han recomendado anuales, siempre que el riesgo de infección esté justificado, ya que la posibilidad de desarrollar PIF se reduce mucho a partir de los 2 años de edad. Otro aspecto a tener en cuenta es la seguridad de la vacuna, ya que los gatos vacunados excretan el virus vacunal por las fosas nasales durante varios días tras la vacunación, algo que desde el punto de vista epidemiológico, podría significar un riesgo, conocida la capacidad de mutación de estos virus.^{2, 17, 21, 29, 42, 49, 60}

Actualmente la Asociación mundial de veterinarios de animales de compañía (WSAVA, de sus siglas en inglés), en el año 2016, presentaron las directrices revisadas para la vacunación de perros y gatos,⁸ no recomienda el uso de esta vacuna indicando que sólo los gatos que no han contactado con coronavirus podrían beneficiarse en cierto grado, pero es muy difícil que un gatito no haya contacto con FCoV si la vacunación se hace a los 4 meses.

Hay un renovado interés por las vacunas frente a PIF, una vacuna basada en un par de virus recombinantes derivados del FIPV tipo II, cepa DF2. Una de las cepas era avirulenta y la segunda, de baja virulencia. En gatos SPF, la protección era completa con la cepa DF2, tras 2 infecciones por vía oronasal y 2 intramusculares separadas 2 semanas. Los gatos Británicos de pelo corto (British shorthair cats), no eran protegidos siguiendo ese mismo protocolo, aunque los grupos experimental y control eran pequeños. La vacunación con el virus avirulento, inducía ADE, y tras el desafío, todos los gatos producían PIF. El 40% de los gatos, tenían una evolución larga, pero el 60% morían casi de forma fulminante. Se supuso que había diferencias entre gatos convencionales y los SPF, aparte de la posibilidad de que ya hubieran contactado antes con virus heterólogos.⁴

Otras medidas preventivas podrían ser el aislamiento de la madre y los gatitos del resto de la población, evitar el estrés del hacinamiento, limitar el movimiento dentro y fuera del criadero/refugio, aislar a los gatos que ingresan o retornan a la colonia, uso de desinfectantes, limpieza diaria o en días alternos de las bandejas de heces que solo deben usarla 1 o 2 gatos, control de otras enfermedades (FIV, FELV) y programas genéticos de selección de familias resistentes. Respecto a éste último punto, gracias a los ensayos genéticos de los últimos años, se han logrado determinar varios genes que interfieren tanto en la predisposición a padecer la enfermedad, como a resistirla. Se necesitan más estudios que posibiliten realizar mejoras en los programas genéticos de los criaderos y favorezcan el desarrollo de gatos más resistentes a padecer PIF.⁵⁰

3. Justificación y objetivos

Las infecciones por coronavirus están siendo la causa de graves enfermedades tanto en la especie humana como en animales. En el planteamiento de este trabajo, se ha considerado, necesario, como primer objetivo, establecer el marco en el que se encuentra la Peritonitis Infecciosa Felina mediante una revisión del conocimiento sobre los mecanismos de acción de los coronavirus en relación con las enfermedades que causan (vista en el apartado de Introducción), y centrando la atención en la fatal enfermedad felina. En segundo lugar, dada la dificultad para conseguir vacunas eficaces frente a esta grave infección, el objetivo es conocer el uso que los profesionales de la medicina veterinaria, concretamente en la ciudad de Zaragoza, están haciendo de la única vacuna comercializada actualmente.

4. Material y métodos

Para llevar a cabo el estudio sobre el uso de la vacuna frente al coronavirus felino causante de la PIF en clínicas veterinarias de Zaragoza, se realizó una primera encuesta, que se envió a los correos electrónicos de diferentes clínicas veterinarias en Zaragoza, tras 2 semanas en las que únicamente se obtuvo una encuesta contestada, se decidió realizar una segunda encuesta más breve y concisa (ANEXO I), e ir personalmente, clínica por clínica indicando que los datos proporcionados serían tratados de forma anónima.

Se han visitado 45 clínicas veterinarias en el centro de Zaragoza, en diferentes barrios, desde más periféricos, como Montecanal o Delicias, o en el centro, como Sagasta. El tiempo invertido en visitar las clínicas ha sido estimado en 35 horas durante los meses de mayo, junio y agosto.

Debido a que algunas clínicas que aparecen en internet se encontraban cerradas y otras que no aceptaban proporcionar esos datos, el resultado final ha sido de 30 encuestas contestadas. Con las 30 encuestas conseguidas se ha procedido a pasar los datos en una tabla Excel 2010. Esta ha sido preparada para el análisis de los datos, utilizando el programa EpiInfo™ 7.0 (Center for the Diseases Control and Prevention, Atlanta GA, USA), para obtener las frecuencias y porcentajes de cada una de las variables consideradas en el cuestionario. Los resultados obtenidos son la base sobre la que se realiza una breve discusión en relación con los métodos utilizados para diagnosticar la enfermedad y las apreciaciones y uso que los profesionales veterinarios dan a la vacuna comercializada.

5. Resultados y discusión de las encuestas realizadas en Zaragoza

El estudio de los datos obtenidos a través de las 30 encuestas ha dado lugar a los siguientes resultados, que deben entenderse como apreciaciones propias de los profesionales encuestados, basadas en su experiencia.

- La **prevalencia anual** de PIF, observada en las clínicas encuestadas, ha sido baja en un 86,7 % (n= 26), media en un 13,3 % (n= 4), y 0% alta (n= 0).

Una mayoría de las clínicas señalaban que tenían sospechas de casos de PIF pero no llegaban nunca al diagnóstico definitivo, y en general se basaban, principalmente, en la anamnesis del animal y en la sintomatología.

La valoración de la prevalencia exacta de la enfermedad en las clínicas es difícil debido a la dificultad de obtener un diagnóstico definitivo y fiable. En general, se considera que el diagnóstico clínico es bastante orientativo en muchos casos, pero la confirmación laboratorial es necesaria ya que, conociendo la fatalidad de la enfermedad, los dueños de los gatos necesitan saber el futuro que les espera a sus mascotas, así mismo, el veterinario puede ofrecer las diferentes terapias (en ocasiones casi experimentales), que podrían ayudar y alargar su vida, o bien, decidir sobre la eutanasia.^{10, 19, 36, 48}

-Como **método de diagnóstico** utilizado por las clínicas entrevistadas se observa un aumento del uso de la PCR (56,7%; 17/30), que es tan solicitada como las pruebas de detección de anticuerpos (Tabla 2). La IFD es utilizada en una sola clínica (3,3%) y el test de Rivalta en 4 (13,3%). En general, en 11 clínicas utilizan al menos 2 tipos de prueba diagnóstica (36,7%). En la Tabla 2, se observa que 9 clínicas utilizan solo la PCR (30,0%), en 8 clínicas sólo la serología (26,7%), y una, el test de Rivalta únicamente (3,3%).

El *test de Rivalta* se ha propuesto como un método económico y sencillo para determinar que el fluido de las cavidades es un exudado (forma Húmeda de la PIF) y en general, es considerado

un paso previo interesante para seguir con el resto de las pruebas diagnósticas, pero sólo indica que el fluido de las cavidades es exudado y no trasudado. Actualmente, la determinación de los niveles de proteína en sangre y fluidos puede ser determinada mediante espectrofotometría, que son métodos más fiables pero más costosos. En cualquier caso, no son confirmativas de PIF ^{1, 48} por lo que no deben ser usadas como única prueba confirmativa, pero ayuda a descartar la PIF si el fluido es un trasudado.

La detección de anticuerpos es y ha sido uno de los principales pilares en los que se ha apoyado el diagnóstico. Hasta el momento presente, no existe un test serológico específico que diferencie los anticuerpos derivados de la infección por coronavirus entéricos y los que se detectan en un caso de PIF. ^{48, 64} En principio la prueba debe ser cuantitativa o semicuantitativa, dado que determinar el título de anticuerpos es esencial para ayudar en el diagnóstico. A mayor título alcanzado (preferiblemente superior a 1/1.600 en Inmunofluorescencia indirecta), la probabilidad de que sea PIF aumenta considerablemente.²⁷ Sin embargo, los títulos bajos podrían indicar infección por coronavirus entéricos pero es válido para detectar excretos de CEFV. Pero frecuentemente, en la forma húmeda, las tasas de anticuerpo detectadas pueden ser muy bajas debido a la formación de complejos antígeno anticuerpo. Lo adecuado en estos casos, es la realización de q-PCR para comprobar si el ARN del Coronavirus se encuentra en los fluidos, pero el resultado no es fiable en la sangre.^{34, 72} Otra interesante prueba para ayudar a confirmar el diagnóstico es la IFD (o técnicas inmunohistoquímicas), pero para eso, debe realizarse en células del sedimento de los fluidos o en biopsias de órganos con granulomas, aunque ocasionalmente, los macrófagos dan fluorescencia no específica, ³⁸ y debería acompañarse de la demostración de vasculitis. En general, se considera que la IFD se debería utilizar más de lo que se está usando actualmente.^{38, 48}

Se ha comprobado que si la serología y la q-PCR se usan como única prueba no garantizan un resultado seguro, por ello se recomienda realizar ambas simultáneamente.⁴⁰ Como se puede deducir de estos datos, las clínicas deberían optar por un conjunto de pruebas laboratoriales para aumentar las probabilidades de confirmar o descartar la PIF. Esto no evita que los resultados de estas pruebas se valoren en relación a los datos clínicos y epidemiológicos del animal.^{2, 40, 48.}

Tabla 2: frecuencia y porcentaje de tipos de pruebas utilizadas por los profesionales veterinarios para diagnosticar PIF.

DIAGNOSTICO	Frecuencia	Porcentaje
PCR	9	30,00%
PCR- Serología	6	20,00%
PCR- Serología- IFD	1	3,33%
PCR- Test Rivalta	1	3,33%
Serología	8	26,67%
Serología- IFD	2	6,67%
Serología- Test Rivalta	1	3,33%
Test Rivalta	2	6,67%
Total	30	100%

- El **uso de la vacuna** frente la infección por FCoV, en las clínicas encuestadas de Zaragoza ha sido de un 56,7% (n= 17), mientras que, actualmente, no es usada por un 43,3 % (n= 13).

El porcentaje de clínicas que usan esta vacuna en este estudio, concuerda con la falta de fiabilidad que se le ha atribuido en diferentes estudios experimentales o en condiciones de campo, en los que los valores de prevención encontrados oscilan entre el 0 y 75%.^{2, 17, 21, 29, 42, 49,}

⁶⁰ Se debe recordar que la vacuna comercializada no actúa frente a la PIF, sino que pretende impedir la infección del gato con FCoV. En este punto, desconocemos si los dueños de los gatos son advertidos de ésta diferencia. La vacuna, de utilización intranasal, pretende crear una barrera de Acs IgA en las mucosas de modo que impidan la entrada de FCoV, que tiene lugar por vía oronasal. Sin embargo, los mismos autores de la vacuna,²¹ observaron que las IgA, en algunos gatos, se desarrollaban tras entrar en contacto con el virus virulento natural y la RIC, esperable por tratarse de una vacuna viva atenuada, tampoco se llega a detectar en algunos gatos.

En cierta medida, lo comentado anteriormente se pone de manifiesto cuando se preguntó a los profesionales veterinarios sobre el **nivel de protección** que observaban en su entorno por el uso de la vacuna, ya que, un 17,6% (n= 3), observa una alta protección de los animales, un 41% (n= 7), una protección media, y otro 41% una baja frente al desarrollo de PIF. Si tenemos

en cuenta también las clínicas que dicen no usar la vacuna actualmente, los porcentajes cambian, de forma que consideran que la vacuna confiere protección alta en un 10 % (n=3), mientras que un 65% (n= 19), la consideran baja protección de la vacuna, y un 25% (n=8), la consideran media. Dentro 56,7% que utilizan la vacuna, un 65 % (n= 11), indica que la usa de forma ocasional en función del paciente y sus necesidades, o incluso si el dueño lo pide. Por otro lado el 35% restante (n= 6), no aclaraba si la utilizan de forma periódica, ocasional o dependiente de las características del individuo. En este punto, debe ser considerado que para algunos autores, la vacuna podría ser más eficaz en gatos que viven en bajo riesgo y nunca antes han contactado con FCoV ¹⁷. El riesgo de que la propia vacuna pudiera favorecer el desarrollo de PIF ha sido uno de los problemas contemplados en el desarrollo de una vacuna eficaz. El fenómeno ADE ⁴⁷, es uno de los más temidos, de ahí se deriva, esta recomendación de administrarla únicamente en gatos que no han contactado con FCoV, lo que en muchas ocasiones es un dato desconocido por los dueños y los veterinarios. En consecuencia, los profesionales veterinarios que deciden usarla, al menos en la primovacunación de los cachorros, deberían comprobar si han contactado con FCoV mediante la detección de Acs en suero.

- La **edad de primo-vacunación** recomendada por la productora de la vacuna (16 semanas en adelante) les parece adecuada en todas las clínicas que usan la vacuna (56,7%; n= 17). Mientras que entre las clínicas que no la usan (43,3%; n= 13), la edad propuesta para la primo vacunación, según su experiencia, en el 69,2%% (n=9) indican que debería ser a partir de las 6 semanas, un 11% (n=2) proponen a partir de las 9 semanas y otro 11%, a partir de las 12 semanas de edad.

La edad de vacunación, junto con la vía de administración, son otros de los aspectos más controvertidos de la vacuna, por un lado, el programa de vacunaciones de los gatitos suele empezar a las 8-9 semanas, en términos generales, y comenzar la vacunación frente a FCoV a partir de los 4 meses complica la primo-vacunación.⁸ Sin embargo, éste no es el mayor problema, ya que los gatitos, si han recibido Acs de origen materno con el calostro, pierden la protección frente a coronavirus a partir de las 6 semanas, de modo que si nacen y viven en un ambiente contaminado con FCoV, la probabilidad de que los gatitos se infecten en esas edades, es de alrededor del 90%.^{1, 3} Esto significa, que si fueran a vacunarse frente a esta infección, existe la posibilidad de que al llegar infectados entraran en riesgo de favorecer el fenómeno ADE con la vacunación, tal y como se ha comentado anteriormente.

- El 100% de las clínicas en las que se usa la vacuna, indica que no han observado **efectos adversos** tras su uso, además, todos los profesionales que hacen uso de ella, tanto de forma periódica como ocasional están a favor de la revacunación anual de los animales vacunados.

Quizás en este punto, el problema está en que en términos generales, se considera efecto adverso cuando es de la suficiente magnitud como para que el dueño del animal se preocupe y consulte con el veterinario. Obviamente, en el momento de la administración intranasal, el gato estornuda repetidamente, pero, en general, no muestra otra signología remarcable. Se olvida, en este sentido, que un efecto adverso no deseado también es que el animal vacunado excrete el virus vivo al exterior, en particular si se trata de un virus con una alta capacidad de mutación, como ocurre en los coronavirus. El mismo hecho de estornudar implica que el virus vivo vacunal es expulsado en pequeñas partículas que podrán entrar en contacto con las mucosas de otros gatos, otras especies (incluida la humana), que se encuentren en la proximidad del gato vacunado. Este hecho, no contemplado por los profesionales veterinarios como efecto adverso, es de una gran preocupación desde el punto de vista sanitario y una de las razones por las que esta vacuna no es recomendada.^{8, 66, 70}

- Por otro lado, el 35% (n= 6), de las clínicas en las que se utiliza la vacuna observa la poca **reducción de casos** tras el uso de la vacuna y el 65% (n= 11) no responden o tienen dudas sobre esta apreciación.

-Dentro del grupo de profesionales que **no usan la vacuna**, un 60% (n= 8) **no** la han **usado antes**, y un 40% (n= 5), sí la habían usado anteriormente, y el 100% de ellos indicaban que dejaron de usarla porque no la consideran eficaz.

Lo observado por el grupo de profesionales que no utilizan la vacuna actualmente está de acuerdo con las recomendaciones que recientemente fue propuesto por la WSAVA en 2016,⁸ que no recomiendan su utilización en base todo lo comentado anteriormente.

Finalmente, un 44% (n= 12), responde que estudiaría si usar o no **una nueva vacuna** que se comercializara; un 52 % (n= 14), indican que la probarían, y un 4 % (n=1) que no la probaría. Tres de los encuestados no contestaron a esta pregunta.

Es comprensible que haya una cierta desconfianza sobre la eficacia y seguridad que puedan tener las vacunas que se están desarrollando actualmente,^{4, 28, 64} máxime si se tiene en cuenta la complejidad de la patogenia de la enfermedad y la facilidad de mutación de los coronavirus. En cualquier caso, el 44% dice que estudiaría esta posibilidad, y es lo que se debería recomendar, ya que la PIF es una enfermedad fatal y si se llega a desarrollar una vacuna con una eficacia mínima del 50-70% y garantías de seguridad para el gato vacunado, los gatos no vacunados y otras especies, incluida la humana, podría ser un gran avance en la lucha frente a la PIF.

6. Conclusiones

-A pesar de los esfuerzos realizados por numerosos investigadores para luchar frente a la PIF, tanto la terapia como la vacunación, sigue siendo problemas sin resolver.

-Las clínicas consultadas no parecen tener un protocolo claro de diagnóstico que les permita confirmar la enfermedad. Tras tener una sospecha clínica y epidemiológica fundada, la primera recomendación es que no se debe confiar en una sola prueba laboratorial, y la segunda recomendación es que se haga la utilización secuenciada del Test Rivalta /Electroforesis serología, PCR e IFD, adaptado a la forma clínica de la PIF.

-Llama la atención que más del 50% de los profesionales veterinarios encuestados, sigan haciendo uso de la vacuna frente coronavirus felino, sabiendo que se ha demostrado científicamente que no es fiable.

7. Valoración personal

Este trabajo me ha servido, entre otras cosas, para aprender a buscar artículos y páginas de interés y como trabajar la información de una forma ordenada. Me ha ayudado a entender esta grave enfermedad que afecta a los gatos y en un futuro espero poder usar este conocimiento en mi labor profesional. También me ha aportado la oportunidad de visitar muchas clínicas veterinarias e interactuar con los profesionales veterinarios. He tomado conciencia sobre la necesidad de estudiar enfermedades como estas para actuar de forma consciente administrando las vacunas. Agradezco en primer lugar a mi tutora María del Carmen Simón Valencia, con quien he tenido la suerte de trabajar y ha estado siempre ahí apoyándome y disponible todo el tiempo. También agradecer a las clínicas que con su amabilidad contestaron mis encuestas y han hecho posible el estudio.

8. Bibliografía

1. Addie D. Feline Coronavirus Infections. En "Infectious Diseases of the Dog and Cat". Greene. 4th edition. 2012, Chapter-10: 92-108
2. Addie D, Belak S, Boucraut-Baralon C, et al. Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. J Fel Med Surg, 2009, 11, 594-604
3. Addie D, Jarrett O. Use of reverse transcriptase polymerase chain reaction for monitoring the shedding of feline coronavirus by healthy cats. Vet Rec, 2001, 148, 649-653
4. Bálint A, Farsang A, Szeredi L, et al. Recombinant feline coronaviruses as vaccine candidates confer protection in SPF but not in conventional cats. Vet Microbiol, 2013, 169, 154-162
5. Chang HW, de Groot RJ, Egberink HF, et al. Feline infectious peritonitis: Insights into feline coronavirus pathobiogenesis and epidemiology based on genetic analysis of the viral 3c gene. J Gen Virol, 2010, 91, 415-420.

6. Chang HW, Egberink HF, Halpin R, et al. Spike protein fusion peptide and feline coronavirus virulence. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18, 1089–1095.
7. Chiu, S.S. Kwok Hung Chan KH, Chu KW et al. Human coronavirus NL63 infection and other coronavirus infections in children hospitalized with acute respiratory disease in Hong Kong. China. *Clin Infect dis*, 2005, 40, 1721–1729
8. Day MJ, Horzinek MC, Schultz RD et al. Directrices para la vacunación de perros y Gatos. Compilado por el grupo de las directrices de vacunación (VGG), de la asociación mundial de veterinarios de pequeños animales (WSAVA). *J Small Anim Pract*, 2016, 57, E1-E45
9. Desmarests LM, Theuns S, Olyslaegers DA et al. Establishment of feline intestinal epithelial cell cultures for the propagation and study of feline enteric coronaviruses. *Vet Res*, 2013, 44, 71
10. Doki T, Takano T, Kawagoe K, Kito A et al. Therapeutic effect of anti-feline TNF-alpha monoclonal antibody for feline infectious peritonitis. *Research in Vet Sci*, 2016, 104, 17–23
11. Doki T, Takano T, Koyama Y, et al. Identification of the peptide derived from S1 domain that inhibits type I and type II feline infectious peritonitis virus infection. *Virus Res*, 2015, 204, 13-20
12. Drechsler Y, Alcaraz A, Bossong FJ, et al. Feline coronavirus in multicat environments. *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 2011, 41, 1133–1169
13. Drosten C, Günther S, Preiser W, et al. Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *N Engl J Med*, 2003, 348, 1967–76 doi:10.1056/NEJMoa030747
14. Duarte A, Veiga I, Tavares L. Genetic diversity and phylogenetic analysis of feline coronavirus sequences from Portugal. *Vet Microbiol*, 2009, 138, 163–168
15. Dye C, Helps CR, Siddell SG. Evaluation of real-time RT-PCR for the quantification of FCoV shedding in the faeces of domestic cats. *J Fel Med Surg*, 2008, 10, 167–174
16. Earles K, Toomey C, Brooks HW, et al. Detection of a group 2 coronavirus in dogs with canine infectious respiratory disease. *Virol*, 2003, 310, 216–223
17. Fehr D, Holznagel E, Bolla S, et al. Placebo-controlled evaluation of a modified live virus vaccine against feline infectious peritonitis: safety and efficacy under field conditions. *Vaccine* 1997, 15, 1101–1119
18. Felten S, Weider, K, Doenges, et al. Detection of feline coronavirus spike gene mutations as a tool to diagnose feline infectious peritonitis. *J. Feline Med. Surg.* 19, 321–335.
19. Fischer Y, Ritz S, Weber K et al. 2011. Randomized, placebo controlled study of the effect of propentofylline on survival time and quality of life of cats with feline infectious peritonitis. *J Vet Inter Med* 25, 1270–1276
20. Ge XY et al. (2013) Isolation and characterization of a bat SARS- like coronavirus that uses the ACE2 receptor. *Nature* 503, 535–538
21. Gerber JD, Ingersoll JD, Gast AM, et al. Protection against feline infectious peritonitis by intranasal inoculation of a temperature sensitive FIPV vaccine. *Vaccine* 1990; 8: 536–42
22. Giordano A, Paltrinier, S, 2009. Interferon- γ in the serum and effusions of cats with feline coronavirus infection. *Vet J* 180, 396–398
23. Golovko L, Lyons LA, Liu H, et al, 2013. Genetic susceptibility to feline infectious peritonitis in Birman cats. *Virus Res* 175, 58–63
24. Hagemeijer MC, Rottier PJ, de Haan C.A., 2012. Biogenesis and dynamics of the coronavirus replicative structures. *Viruses* 4, 3245–3269

25. Hamre D, Kindig DA, Mann J. Growth and Intracellular Development of a New Respiratory Virus. *J Virol* 1967;1:810–6
26. Harley R, Fewes D, Helps CR, et al, 2013. Phylogenetic analysis of feline coronavirus strains in an epizootic outbreak of feline infectious peritonitis. *J Vet Inter Med* 27, 445–450
27. Hartmann K, Binder C, Hirschberger J, et al , 2003. Comparison of different tests to diagnose feline infectious peritonitis. *J Vet Inter Med*, 2003, 17, 781–790
28. Hebben M, Duquesne V, Cronier J et al. Modified vaccinia virus Ankara as a vaccine against feline coronavirus: immunogenicity and efficacy *J Fel Med Surg*, 2004, 6, 111-118 <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2003.12.011>Get rights and content
29. Hoskins JD, Henk WG, Storz J, et al. The potential use of a modified live FIPV vaccine to prevent experimental FECV infection. *Feline Pract* 1995; 23: 89–90
30. Hsieh L., Lin CN, Su BL, et al, 2010. Synergistic antiviral effect of Galanthus nivalis agglutinin and nelfinavir against feline coronavirus. *Antiviral Res* 88, 25–30
31. Jaimes JA, Whittake GR. Feline coronavirus: Insights into viral pathogenesis based on the spike protein structure and function. *Virol* 517 (2018) 108–121
32. Jeffery U, Deitz K, Hostetter S, 2012. Positive predictive value of albumin:globulin ratio for feline infectious peritonitis in a mid-western referral hospital population. *J Fel Med Surg* 14, 903–905
33. Kim Y, Mandadapu SR, Groutas WC, et al, 2013. Potent inhibition of feline coronaviruses with peptidyl compounds targeting coronavirus 3C-like protease. *Antiviral Res* 97, 161–168
34. Kipar A, Meli ML, Baptiste KE, et al, 2010. Sites of feline coronavirus persistence in healthy cats. *J Gen Virol* 91, 1698–1707
35. Lau S, Li KS, Huang Y et al. (2010) Ecoepidemiology and complete genome comparison of different strains of severe acute respiratory syndrome related Rhinolophus bat coronavirus in China reveal bats as a reservoir for acute, self-limiting infection that allows recombination events. *J. Virol.* 84, 2808–2819
36. Legendre AM, Bartges JW, 2009. Effect of polyprenyl immunostimulant on the survival times of three cats with the dry form of feline infectious peritonitis. *J Fel Med Surg* 11, 624–626
37. Licitra BN, Millet JK, Regan AD, et al, 2013. Mutation in spike protein cleavage site and pathogenesis of feline coronavirus. *Emergi Infect Dis* 19, 1066–1073
38. Litster AL, Pogranichniy R, Lin TL, 2013. Diagnostic utility of a direct immunofluorescence test to detect feline coronavirus antigen in macrophages in effusive feline infectious peritonitis. *Vet J* 198, 362–366
39. Liu IJ, Tsai WT, Hsieh LE, Chueh LL, 2013. Peptides corresponding to the predicted heptad repeat 2 domain of the feline coronavirus spike protein are potent inhibitors of viral infection. *PLoS ONE* 8, e82081
40. Lorusso E, Mari V, Losurdo M, et al. Discrepancies between feline coronavirus antibody and nucleic acid detection in effusions of cats with suspected feline infectious peritonitis. *Res Vet Sci*, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.10.004>
41. Lu S, Wang Y, Chen Y, et al. Discovery of a novel canine respiratory coronavirus support genetic recombination among betacoronavirus1. *Virus Res* 237 (2017) 7–13
42. McArdle F, Tennant B, Bennett M, et al. Independent evaluation of a modified live FIPV vaccine under experimental conditions (University of Liverpool experience). *Feline Pract* 1995; 23: 67–71scienc

43. McIntosh K, Dees JH, Becker WB, et al. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1967;57:933–40
44. Meli ML, Burr P, Decaro N, et al, 2013. Samples with high virus load cause a trend toward lower signal in feline coronavirus antibody tests. *J Vet Med Surg* 15, 295–299
45. Myrrha LW, Silva FM, Peternelli EF, et al 2011. The paradox of feline coronavirus pathogenesis: A review. *Adv Virol* 2011, 109849
46. OMS | Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) – Arabie saoudite. WHO n.d. <http://www.who.int/csr/don/21-march-2016-mers-saudi-arabia/fr/> (accessed April 5, 2016)
47. Pedersen NC An update on feline infectious peritonitis: Virology and Immunopathogenesis. *The Vet. J.*, 2014a, 201: 123-132
48. Pedersen NC An update on feline infectious peritonitis: Diagnostics and therapeutics. *The Vet. J.*, 2014b, 201: 133-141
49. Pedersen NC, Allen CE, Lyons LA, 2008. Pathogenesis of feline enteric coronavirus infection. *J Vet Med Surg* 10, 529–541.
50. Pedersen NC, Liu H, Durden M, et al. Natural resistance to experimental feline infectious peritonitis virus infection is decreased rather than increased by positive genetic selection. *Vet Immunol Immunopathol*, 2016, 171, 17-20 Añadida ahora, ya he cambiado todos los números en el texto
51. Pedersen NC, Liu H, Dodd KA, et al, 2009. Significance of coronavirus mutants in feces and diseased tissues of cats suffering from feline infectious peritonitis. *Virus*, 1: 166–184
52. Pedersen NC, Liu H, Scarlett J, et al. Feline infectious peritonitis: Role of the feline coronavirus 3c gene in intestinal tropism and pathogenicity based upon isolates from resident and adopted shelter cats. *Virus Res*, 2012, 165: 17–28
53. Perlman S. and Netland J.(2009) Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat. Rev. Microbiol.* 7, 439–450
54. Porter E, Tasker S, Day MJ et al 2014. Amino acid changes in the spike protein of feline coronavirus correlate with systemic spread of virus from the intestine and not with feline infectious peritonitis. *Vet Res* 45, 49 [Epub ahead of print]
55. Pyrc K, Dijkman R, Deng L et al. (2006) Mosaic structure of human coronavirus NL63, one thousand years of evolution. *J. Mol. Biol.* 364, 964–973
56. Reusken Ch BEM, Raj VS, Marion P Koopmans MP et al. Cross host transmission in the emergence of MERS coronavirus. *Curr Opin Virol.* 2016, 16: 55–62
57. Riemer F, Kuehner KA, Ritz S, et al (2015). Clinical and laboratory features of cats with feline infectious peritonitis - a retrospective study of 231 confirmed cases (2000-2010). *J Feline Med Surg* 18: 348–56. doi: <https://doi.org/10.1177/1098612X15586209>
58. Samara E.M. and Abdoun KA (2014) Concerns about misinterpretation of recent scientific data implicating dromedary camels in epidemiology of Middle East respiratory syndrome (MERS). *Mbio* 5, e01430–e1514
59. Schneider M, Ackermann K, Stuart M, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus replication is severely impaired by MG132 due to proteasome-independent inhibition of M-calpain. *J Virol*, 86 (2012), pp. 10112-10122
60. Scott FW, Olsen CW, Corapi WV. Independent evaluation of a modified live FIPV vaccine under experimental conditions (Cornell experience). *Feline Pract* 1995; 23: 74–6

61. Siddell S, Wege H, ter Meulen V. The structure and replication of coronaviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 1982a;;99:131–63
62. Soma T, Wada M, Taharaguchi S, et al, 2013. Detection of ascitic feline coronavirus RNA from clinically suspected cats of feline infectious peritonitis. *J Vet Med Sci* 75, 1389–1392
63. Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends Microbiol*, June 2016, Vol. 24, No. 6 <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>
64. Takano T, Ishihara Y, Matsuoka M, et al ,2013a. Use of recombinant nucleocapsid proteins for serological diagnosis of feline coronavirus infection by three immunochromatographic tests. *J Virol Met* 196, 1–6
65. Takano T, Katoh Y, Doki, T, et al 2013b. Effect of chloroquine on feline infectious peritonitis virus infection in vitro and in vivo. *Antiviral Res* 99, 100–107
66. Takano T, Kawakami C, Yamada S, et al, 2008. Antibody dependent enhancement occurs upon re-infection with the identical serotype in feline infectious peritonitis virus infection. *J Vet Med Sci* 70, 1315–1321
67. Takano T, Tomiyama Y, Katoh Y, et al 2011b. Mutation of neutralizing/antibody-dependent enhancing epitope on spike protein and 7b gene of feline infectious peritonitis virus: Influences of viral replication in monocytes/macrophages and virulence in cats. *Virus Res* 156, 72–80
68. Tanaka Y, Sato Y, Sasaki T, 2013. Suppression of coronavirus replication by cyclophilin inhibitors. *Viruses* 5, 1250–1260
69. Taylor S, Tappin SW, Dodkin SJ, et al2010. Serum protein electrophoresis in 155 cats. *J Fel Med Surg* 12, 643–653
70. Tekes G, Thiel HJ. Feline Coronaviruses: pathogenesis of feline infectious peritonitis. *Adv Virus Res* 2016; 96: 193-218
71. Van Hamme E, Dewerchin HL, Cornelissen E, et al, 2008. Clathrin- and caveolae-independent entry of feline infectious peritonitis virus in monocytes depends on dynamin. *J Gen Virol* 89, 2147–2156
72. Vogel L, Van der Lubben M, Te Lintel, EG, et al. 2010. Pathogenic characteristics of persistent feline enteric coronavirus infection in cats. *Vet Res* 41, 71
73. Wiggans KT, Vernau W, Lappin MR, et al, 2013. Diagnostic utility of aqueocentesis and aqueous humor analysis in dogs and cats with anterior uveitis. *Vet Ophthalmol* 17, 212–220
74. Van Hamme E, HL Dewerchin, E Cornelissen, et al. 2008. – Clathrin - and caveolae-independent entry of feline infectious peritonitis virus in monocytes depends on dynamin. *J. Gen Virol.*, 89: 2147-56
75. Woo PC, Lau SKP, Huang Y, et al. (2009) Coronavirus diversity, phylogeny and interspecies jumping. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* 234, 1117–1127
76. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM et al. Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med* 2012;367:1814 20. doi:10.1056/NEJMoa1211721
77. Zumla A., Hui D, Perlman S. Middle East respiratory syndrome. *Lancet*, 2015, 386, 995–1007

10. Anexos

Anexo I. Encuesta definitiva para las clínicas veterinarias

USO DE LA VACUNA FRENTE A LA PERITONITIS INFECCIOSA FELINA (PIF) (señalar la opción que considere adecuada)			
Localización geográfica de la clínica	Centro	Periferia	Rural
Prevalencia aproximada anual que observa en su clínica?	Baja (menor 1%)	Media: hasta 10%	Alta: mayor 10%
Método de diagnóstico utilizado (puede señalar varias):	Serología	Serología + IFD	PCR
¿Valora los datos hemáticos y bioquímicos?	SI	NO	Algunas veces
¿Utiliza la Vacuna frente PIF (Coronavirus Felinos)?	SI	NO	
En caso afirmativo:			
Grado de protección que le atribuye	Bajo (<50%)	Medio (50 a 70%)	Alto (>70%)
¿Le parece que la vacunación ha conseguido reducir los casos de PIF en su zona?	No hay reducción	Poca reducción	Alta reducción
¿Qué efectos adversos ha observado tras su administración? (Puede señalar varias)			
Inmediatos-Locales	Leves	Moderados	Graves
Generales	Leves	Moderados	Graves
Retardados-Locales	Leves	Moderados	Graves
Generales	Leves	Moderados	Graves
¿Qué opina de la EDAD de inicio de la primovacunación recomendada?	Es adecuada	Es tarde	Es pronto
¿Cuándo debería empezar la primovacunación según su experiencia?	≥ 6 semanas	≥ 9 semanas	≥ 12 semanas
¿Considera adecuada la revacunación anual?	SI	NO	
En caso negativo: ¿cada cuánto tiempo?	< 1 año	> 1 año	
Si NO utiliza la vacuna:			
La utilizó alguna vez:	SI	NO	
¿Por qué dejó de utilizarla? (puede señalar varias)	NO recomienda	NO es eficaz	Lo estudiaría
Si comercializa una nueva vacuna: la probaría	SI	NO	